

Aus dem chemischen Laboratorium (Priv.-Doz. Dr. W. Schuler)
der medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Vorstand: Prof. Dr. L. R. Müller).

1935

Die Harnsäuresynthese im Vogelorganismus.

3. Beitrag:

Die Rolle der Muskulatur für die Harnsäuresynthese.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Bayer. Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Josef Mahlmeister

aus Bamberg.

Tag der mündlichen Prüfung: 28. II. 1935.

1935

Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstraße 3.

1936/238

Dekan: Geheimrat Prof. Dr. F. Jamin.

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Schuler.

Disposition.

A. Einleitung.

B. Besonderer Teil.

1. Vorversuche.
2. Zerstörung eventuell vorhandener Fermente durch Kochen.
3. Abhängigkeit der gebildeten Vorstufenmenge von der Extraktionszeit.
4. Temperaturoptimum.
5. Zusatz von Leberferment zu Muskelpulver.
6. Wirkung anderer Zusätze.

C. Beschreibung der Versuche.

D. Zusammenfassung der Ergebnisse.

E. Literaturangabe.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung.

Die physiologische Chemie, die sich hauptsächlich mit der Erforschung der Stoffwechselvorgänge im menschlichen und tierischen Organismus befaßt, wurde durch die verhältnismäßig noch junge Entdeckung der die Zellkerne aufbauenden Stoffe, der sogenannten Nucleoproteide um ein weiteres Gebiet der Forschung bereichert.

Die Nucleoproteide sind Verbindungen von Eiweiß mit Polynucleotiden, die ihrerseits wieder Komplexe mehrerer einfacher Nucleinsäuren darstellen. Eine einfache Nucleinsäure oder ein Mononucleotid baut sich aus den drei Molekülgattungen: Purin — Zucker — Phosphorsäure auf.

Unsere bisherigen Kenntnisse über den Nucleinstoffwechsel beziehen sich besonders auf die chemische Zusammensetzung der Nucleinsäuren, auf ihren Abbau im Magen-Darmtraktus, in welchen sie in Form der zellkernhaltigen Nahrung gelangen, oder auf den Abbau endogener Zellkernsubstanzen. Es ist bekannt, daß zur Aufrechterhaltung einer normalen Zellkern-tätigkeit dauernd die bei der Zellmauserung zerfallenen Nucleinsäuren wieder neu aufgebaut werden müssen. Ueber diesen aufbauenden intermediären Stoffwechselvorgang ist aber noch kaum etwas bekannt, besonders über den Aufbau des charakteristischsten Bestandteiles der Nucleotide, des sogenannten Purinringes.

Obwohl das Skelet der Harnsäure eines Trioxypurins formelmäßig aus einer 3-Kohlenstoffkette und 2 Harnstoffresten besteht und eine Synthese aus diesen Stoffen sich theoretisch ableiten läßt, steht der Beweis für eine derartige Bildung vollkommen aus. Ein physiologischer Aufbau des Purinskelets ist bekanntlich die Harnsäuresynthese bei Vögeln und Reptilien. Obwohl diese Synthese im Vogelorganismus, wie die Harnstoffsynthese im Säugetierorganismus, dem Zwecke der Stickstoffausscheidung dient, könnte die Erforschung ihres Mechanismus doch geeignet sein, Schlüsse auf die Purinsynthese zum Zwecke des Aufbaues der Zellkernsubstanzen ziehen zu lassen.

W. Schuler und W. Reindel (1) haben deshalb mit Hilfe moderner Versuchsanordnung in das Problem der Harnsäuresynthese im Vogelorganismus Einblick gebracht. Die Versuche wurden größtenteils im Reagenzglas mit überlebenden Organschnitten durchgeführt, da man von der Vorstellung ausging, daß synthetische Reaktionen an lebendes Gewebe gebunden sind. Beide Autoren wiesen nach, daß an der Harnsäuresynthese in der Taube sowohl Niere als auch Leber teilnehmen und daß der Ort der Harnsäurebildung bei der Taube die Niere ist, die einen in der Leber vorhandenen, wasserlöslichen Stoff, genannt Vorstufe, in Harnsäure umwandelt.

Der Vorgang in der Niere und weiterhin seine günstigsten Bedingungen und Voraussetzungen wurden von W. Nürnberger (2) näher untersucht. Vor allem konnte er als Optimum für die Harnsäurebildung in der Niere ein pH von 7,1 ermitteln.

Näher untersucht wurde der Vorgang in der Leber von Renzo Ziebarth (3). Es gelang ihm festzustellen, daß die Vorstufe in physiologischer Lösung nicht durch einfache Extraktion gewonnen, sondern in der Leber während des Schüttelns optimal bei einem pH von 7,6 und einer Temperatur von 40 Grad neu gebildet wird und die Neubildung nicht an lebendes Gewebe gebunden ist, sondern einen Fermentvorgang darstellt.

Besonderer Teil.

Nach diesen Untersuchungsergebnissen war es naheliegend, auch andere Organpulver auf den Gehalt und die Art der Gewinnung an Vorstufe, das heißt ob einfache Extraktion oder fermentative Neubildung von Vorstufe vorliegt, zu untersuchen. Diese Aufgabe konnte ich dadurch experimentell bearbeiten, daß ich mir die bisher besonders bei der Bearbeitung des Vorganges in der Leber gewonnenen Erfahrungen zunutze machte und Vergleiche mit den Ergebnissen der Leberuntersuchung vornahm. Zunächst war es die Muskulatur, die das Interesse deshalb auf sich zog, da sie sich ziemlich reich an einer Substanz erwies, die sich bei Behandlung mit überlebenden Nierenschnitten ebenso verhielt, wie die in der Leber entstehende Vorstufe.

Nachdem Vorversuche bestätigt hatten, daß nicht nur der Extrakt aus überlebenden Muskelschnitten, sondern auch, wie bei der Leber, der Trockenpulverextrakt die Vorstufe enthalten, hielt ich es für angezeigt, die Erfahrungen mit Lebertrockenpulver mir zunutze zu machen, und haltbares, nach Willstätter mit Aceton

und Aether bereitetes Muskeltrockenpulver zu verwenden, da dessen Gebrauch die Bearbeitung wesentlich erleichterte. Bei der Herstellung des Muskeltrockenpulvers war darauf zu achten, feine und grobe bindegewebliche Beimengungen und sehnige Bestandteile fern zu halten. Da sich als Lösungsmittel für die Vorstufe, wie bei der Leber, sowohl eine der gebräuchlichsten physiologischen Lösungen als auch Phosphatpuffer bewährte, gebrauchte ich wie bei der Untersuchung des Lebervorganges Phosphatpuffenlösung ph 8,3. Muskeltrockenpulver wurde in dieser Lösung suspendiert, das Ganze dann bei Körpertemperatur der Taube (41 Grad) im Thermostaten geschüttelt, nach bestimmter Zeit aufgekocht und das Muskelpulver durch Filtrieren abgetrennt. Der auf diese Weise erhaltene Extrakt wurde auf ph 7,2 gebracht und nach vierstündigem Schütteln mit Taubennierenschnitten die in der Lösung entstandene Harnsäure bestimmt.

Ferner galten in erster Linie die weiteren Untersuchungen der Klärung der Frage:

Ist die Vorstufe bereits im Muskel enthalten und wird sie infolgedessen einfach durch Extraktion gewonnen oder erfolgt ähnlich wie in der Leber eine fermentative Neubildung von Vorstufe im Muskel?

Durch folgende Versuchsreihen wurde diese Frage zu beantworten versucht.

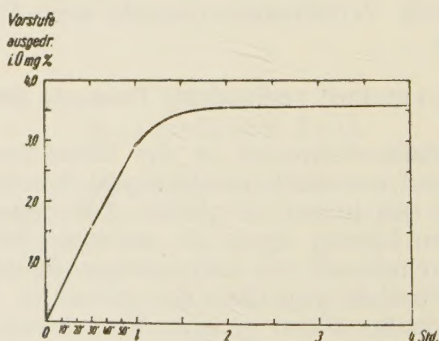
1. Zerstörung eventuell vorhandener Fermente durch Kochen.

Wurde Muskeltrockenpulver in der Extraktionslösung sofort aufgekocht, so fand man nach vierstündigem Schütteln ebenso viel Vorstufe wie sie sich in der zu gleicher Zeit angesetzten, jedoch nicht aufgekochten Lösung ergab. Zu erwähnen ist, daß sich zunächst beim Nierenversuch mit ungekochtem Muskeltrockenpulver etwas mehr an Vorstufe gegenüber dem gekochten Muskeltrockenpulver ergeben hatte. Diese geringe Vermehrung bestand, wie sich später herausstellte nur zum Schein und war auf folgendem Umstand, der zur Fehlerquelle und damit zu falschem Ergebnis führte, zurückzuführen: Das anfänglich in Form einer Suspension vorhandene Muskelpulver ballte sich beim Kochen plötzlich zusammen und das geballte Pulver wurde schwerer extrahiert. Wurde das Zusammenballen verhindert oder die zusammengeballten Massen wieder aufgelockert, so war am Ende fast kein Unterschied zwischen beiden Versuchsergebnissen vorhanden. Diese Tatsache steht im Gegensatz zu dem Ergebnis bei Verwendung von Leberpulver und weist darauf hin, daß es sich bei der Muskulatur nicht um einen Fermentvorgang, sondern um eine einfache Extraktion bereits

vorgebildeter Vorstufe handelt. Eine weitere Bestätigung brachten noch andere Versuche, die einen Fermentvorgang entweder be-
weisen oder ausschließen sollten.

2. Abhängigkeit der gebildeten Vorstufenmenge von der Extraktionszeit.

Wurde Lebertrockenpulver verschiedene Zeit lang mit Pufferlösung geschüttelt, filtriert und die in Lösung vorhandene Vorstufe mit Nierenschnitten in Harnsäure umgewandelt und als solche bestimmt, so fand sich eine mit der Zeit zunehmende, der Vorstufe entsprechende Vermehrung der Harnsäure in der Lösung. Die in Lösung gegangene Vorstufe wurde zunächst alle 10 Minuten, dann in stündlichem Abstand (bis 4 Std.) festgestellt. Die kurvenmäßig in Abhängigkeit von der Zeit dargestellte Vermehrung der Vorstufe in der Lösung ergab mit Mus-
kelpulver ein anderes Bild als mit Leberpulver, wie aus Figur I ersichtlich ist. Der Großteil der Vorstufe ist bereits nach 20 Minuten in Lösung gegangen, während das Maximum beim fermentativen Lebervorgang erst nach eineinhalb bis 2 Stunden erreicht ist.

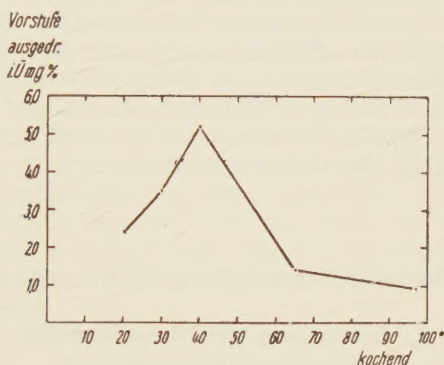


Bildung der $\bar{U}$ -Vorstufe in der Leber — . — . —
Extraktion der $\bar{U}$ -Vorstufe aus Muskel - - x - - x - -
Figur I.

Temperaturoptimum.

Würde es sich bei der Muskulatur um einen Fermentvorgang handeln, dann müßte die Bildung der Vorstufe in der Nähe der Körpertemperatur der Taube ein Temperaturoptimum haben. Da

aber die Extraktionsgeschwindigkeit bei einem Temperaturbereich von 7—96 Grad praktisch gleich ist, kann es sich wiederum nur um eine einfache Extraktion der Vorstufe handeln (Figur II). Die Extraktion der Vorstufe wurde bei Temperaturen von 7 Grad, 20 Grad, 40 Grad, 60 Grad und 96 Grad vorgenommen.



Temperaturoptimum der Bildung der $\bar{U}$ -Vorstufe in der Leber — . — . —
Extraktion der $\bar{U}$ -Vorstufe bei versch. Temperatur aus Muskel - - x - - x - -
Figur II.

War somit der Beweis erbracht, daß es sich bei der Muskulatur um eine einfache Extraktion und nicht wie bei der Leber um eine fermentative Neubildung von Vorstufe handelt, so machte sich bei der Untersuchung der Muskulatur die Feststellung des ph-Optimums überflüssig.

Daß sich bei Vorhandensein von Vorstufe in der Muskulatur eine Neubildung nicht nachweisen läßt, könnte seinen Grund im Fehlen entweder des zur Bildung nötigen Fermentes oder eines zur Bildung nötigen Bausteines haben.

4. Zusatz von Leberferment zu Muskelpulver.

Ich gab Leberferment in der Form zu, daß ich Muskel- und Leberpulver zusammenbrachte und vier Stunden lang in Thermostaten schüttelte, und gleichzeitig einen Muskel- und Leberversuch laufen ließ. Es fand sich aber nach dieser Zeit in der Lösung nicht mehr Vorstufe als die Summe der im Muskel enthaltenen und in der Leber in gleicher Zeit gebildeten Vorstufe entsprach. Dieser Versuch besagt, daß im Muskel die in der Leber für Neubildung vorhandenen Bausteine fehlen.

5. Wirkung anderer Zusätze.

Bei Zusetzen von Stoffen zum Muskelpulver, wie Harnstoff oder Aminosäuren, welche bei der Untersuchung des Lebervorgangs eine Steigerung der gebildeten Harnsäure hervorbrachten, war im Vergleich zum Muskelversuch ohne Zusatz keine Vermehrung von Harnsäure wie bei überlebenden Leberschnitten festzustellen. Als Zusatzstoffe habe ich Ammoniumcarbonat und Aminosäuren in Form von Alanin, Glykokoll und Milchsäure in geeigneter Konzentration in Pufferlösung mit Muskel trockenpulver verwendet und in dem nach 4 Stunden Schütteln bei 41 Grad erhaltenen Extrakt mit Nierenschnitten Harnsäure synthetisiert.

Beschreibung der Versuche.

1. Herstellung der Gewebsschnitte.

Sofort nach Tötung des Tieres werden die zu untersuchenden Organe rasch herausgenommen und in eine bereit gehaltene körperwarmer physiologische Kochsalzlösung bis zur Weiterbearbeitung gelegt, Bindegewebe und Gefäße nach Möglichkeit entfernt und dann mit dem Rasirmesser Schnitte bis zu ungefähr 1 mm Dicke hergestellt. Mit Hilfe einer Torsionswaage wird die nötige Menge an Schnitten genau abgewogen. Nach 1 Minute langem Waschen in mit Sauerstoff gesättigter physiologischer Kochsalzlösung von Körpertemperatur des Tieres werden die Schnitte in die schon vorbereitete Versuchslösung gebracht.

2. Herstellung des Organpulvers.

Das für die Muskelversuche nötige Trockenpulver wird nach Willstätter dargestellt. Die frisch entfernten, von Bindegewebe befreiten und gut zerkleinerten Organe werden nacheinander dreimal mit der 4—5 fachen Menge Aceton, einmal mit Aceton-Aether (1:1) und dreimal mit Aether behandelt, wonach das Organ beim Trocknen im Vakuum zerfällt. Das Pulver kann lange Zeit aufbewahrt werden, ohne an Wirksamkeit zu verlieren.

3. Vorstufenlösung.

Für die Darstellung von Vorstufe enthaltenden Lösungen aus den Organpulvern wurde meist 0,5 g Pulver für 10 ccm Lösung

verwendet. Solche Mengenverhältnisse liefern Harnsäurewerte, die im günstigsten Meßbereich der kolorimetrischen Bestimmung der Harnsäure liegen. Lösungsmittel sind wie bei den einzelnen Versuchen angegeben, physiologische Kochsalzlösung, die von H. A. Krebs angegebene, oder eine Pufferlösung. Als Versuchsgefäße dienen je nach der Menge der nötigen Lösung verschieden große Kölbchen, die im Thermostaten an eine Schüttelvorrichtung eingespannt werden können. Die Versuche wurden bei Körpertemperatur der Taube (41 Grad) ausgeführt. Die Reaktion ist nach zirka 3 Stunden beendet. Für den Nierenversuch fügt man gewöhnlich zu 2 ccm der Vorstufenlösung 250 mg lebende Nierenschnitte und 8 ccm einer Phosphatpufferlösung von ph 7,1. Zur Ermittlung des Eigenharnsäuregehaltes der Niere stellt man in die Versuchsreihe noch ein Kölbchen mit 250 mg Niere in 10 ccm Puffer. Nach abermaligem Schütteln unter Sauerstoffzuleitung werden die Nierenschnitte nach 4 Stunden abfiltriert und in der Lösung die Harnsäure bestimmt.

4. Harnsäurebestimmung.

Die von den Gewebsschnitten abfiltrierte Lösung wird mit Uranylacetat nach Neubauer enteiweißt und im enteiweißten Filtrat die Harnsäure mit Phosphorwolframsäure nach Folin kolorimetrisch bestimmt.

Versuche.

I. Verwendungsmöglichkeit von Muskelpulver und Vergleich mit Leberpulver.

1. Muskelpulver.

0,5 g Muskelpulver wurde 2 Stunden in 10 ccm Phosphatpufferlösung ph 8,3 in O₂-Atmosphäre geschüttelt. Nach Aufkochen und Filtrieren wurden je 2 ccm Extrakte — 8 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 mit 250 mg Nierenschnitten versetzt und vier Stunden in O₂ geschüttelt.

2. Leberpulver.

0,5 g Leberpulver wurde 2 Stunden in 10 ccm Phosphatpuffer ph 8,3 unter O₂ geschüttelt. Die Lösungen wurden dann wie oben mit 250 mg Frischniere behandelt.

Extrakt	gebildete $\bar{U}$ in mg%		synthet. $\bar{U}$ in mg%	
	1. Versuch	2. Versuch	1. Versuch	2. Versuch
aus Muskelpulver	3,0	2,90	1,90	1,80
aus Leberpulver	3,65	4,15	2,55	3,05
Nierenleerversuch	1,10	1,10		

II. Extraktion von Vorstufe aus Muskel, keine Neubildung.

1. Je 1 g Brustmuskelpulver wurde im ersten Fall aufgekocht, im zweiten Fall nicht aufgekocht, dann mit 10 ccm Phosphatpuffer ph 8,3 eine Stunde lang geschüttelt. Von den Extrakten wurden je 3 ccm + 7 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 mit 250 mg Niere unter O_2 4 Stunden geschüttelt. — Nierenleerversuch mit 250 mg Niere.

2. Je 2 g anderes Brustmuskelpulver wie oben mit 15 ccm Puffer 4 Stunden extrahiert. Dann 2 ccm dieser Lösung + 8 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 wie oben.

3. Je 1 g Brustmuskelpulver mit 15 ccm Puffer ph 8,3 4 Stunden extrahiert, davon je 3 ccm + 7 ccm Puffer wie oben.

Vers. Nr.	$\bar{U}$ aus gekochtem Muskelpulver in mg %	$\bar{U}$ aus ungekochtem Muskelpulver in mg %	Nierenleerversuch	Synthet. $\bar{U}$ aus gekochtem Muskelpulver	Synthet. $\bar{U}$ aus ungekochtem Muskelpulver
1	8,05	8,45	2,05	6,0	6,4
2	7,40	7,40	3,25	4,15	4,15
3	5,35	5,35	3,0	2,35	2,35

III. Zeitlicher Verlauf der Extraktion aus Muskel (Fig. I).

Je 0,5 g Schenkelmuskelpulver wurden verschieden lange bei 41 Grad mit 7,5 ccm Phosphatpufferlösung ph 8,3 geschüttelt, sofort aufgekocht und filtriert. Dann 2 ccm dieser Lösung + 8 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 mit 250 mg Niere 4 Stunden unter O_2 geschüttelt. — Nierenleerversuch 2,9 mg% $\bar{U}$.

Zeit in Minuten	5	10	20	40	60
mg% gebildete $\bar{U}$, abzüglich Leervers.	1,5	2,55	2,95	2,90	2,95

IV. Abhängigkeit der Muskelextraktion von der Temperatur (Fig. II).

Je 0,5 g Schenkelmuskelpulver wurden bei verschiedener Temperatur eine halbe Stunde lang mit 7,5 ccm Phosphatpufferlösung ph 8,3 extrahiert, dann sofort aufgeköcht und filtriert, endlich 3 ccm dieser Lösung + 7 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 mit 250 mg Niere geschüttelt. — Nierenleerversuch 1,60 mg% U.

Temperatur	7°	20°	40°	60°	97°
mg% gebildete U, abzüglich Leervers.	3,8	4,3	4,3	4,3	4,2

V. Wirkung von Leberpulverextrakt bei der Muskelextraktion.

0,5 g Brustmuskelpulver, 0,5 g Leberpulver und 0,5 g Brustmuskelpulver zusammen mit 0,5 g Leberpulver wurden in je 7,5 ccm Phosphatpuffer ph 8,3 4 Stunden geschüttelt. Anschließend Nierenversuch mit 2 ccm Extrakt + 8 ccm Puffer ph 7,2 + 250 mg Niere.

Brustmuskelpulver U in mg %	Leberpulver U in mg %	Brustmuskel- + Leberpulv. U in mg %	Nierenleer- versuch	Synthet. mit Leberpulver	U in mg % ohne Leberpulver
5,25	4,75	9,55	2,10	2,70	3,15

VI. Wirkung von Zusätzen.

1. Zusatz von Alanin und Harnstoff.

a) Alanin. — 0,5 g Schenkelmuskelpulver wurde in 7,5 ccm Lösung nach Krebs, der Alanin in einer Konzentration von 60 mg% zugesetzt war, daneben der gleiche Versuch ohne Alanin unter O₂ 4 Stunden geschüttelt. Dann je 2 ccm dieser Lösung + 8 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 + 250 mg Niere unter O₂ 4 Stunden geschüttelt.

b) Harnstoff. — wie a), nur 30 mg% Harnstoff.

2. Zusatz von Ammoniumcarbonat und Harnstoff.

Wie 1.; 94 mg% Ammoniumcarbonat und 30 mg% Harnstoff.

3. Zusatz von Milchsäure und Glykokoll.

a) 0,5 g Taubenbrustmuskelpulver in 10 ccm Phosphatpufferlösung ph 8,3; 20 mg% Milchsäure. — 2 ccm dieser Lösung + 8 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 + 250 mg Frischniere.

b) 0,5 g Taubenmuskelpulver in 10 ccm Phosphatpufferlösung pH 8,3; 50 mg₀ Glykokoll. — 2 ccm dieser Lösung + 8 ccm Phosphatpufferlösung pH 7,2 + 250 mg Frischniere, dazu derselbe Versuch ohne Zusatz.

Vers. Nr.	Zugesetzte Substanz	Gebild. $\bar{U}$ in mg ₀ mit Substanz	Gebild. $\bar{U}$ in mg ₀ ohne Substanz	Nieren-leer-versuch	Synthet. $\bar{U}$ in mg ₀ ohne Substanz	Vermehrung durch zuges. Substanz	
						in mg ₀	in %
1a	Alanin	3,15	3,35	1,2	1,95	—0,20	—5
1b	Harnstoff	3,15	3,35	1,2	1,95	—0,20	—5
2a	(NH ₄) ₂ CO ₃	3,75	3,65	1,85	1,90	+0,10	+5
2b	Harnstoff	3,85	3,65	1,85	2,0	+0,20	+10
3a	Milchsäure	4,95	4,95	1,75	3,20	+0	+0
3b	Glykokoll	5,05	4,95	1,75	3,30	+0,10	+3

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Vorstufe für die Synthese der Harnsäure im Vogelorganismus wird im Muskel nicht wie in der Leber fermentativ gebildet, sondern durch einfache Extraktion aus dem Muskel gewonnen. Die Extraktion erfolgt unabhängig von der Temperatur, schon bei 7° maximal. Der Muskel enthält weder eine Substanz, die für die Bildung der Vorstufe notwendig ist, noch ein Ferment, mit Hilfe dessen die Vorstufe entsteht.

Zum Schlusse möchte ich nicht verfehlen, Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Schuler und Herrn Dr. W. Reindel für die lebenswürdige Beratung bei dem experimentellen Teil der Arbeit ganz ergebenst zu danken.

Literaturangabe.

1. W. Schuler und W. Reindel: Kli. Wschr. 1933, Nr. 19, 736.
2. W. Nürnberger: Dissertation 1934, Erlangen.
3. R. Ziebarth: Dissertation 1935, Erlangen.

Lebenslauf.

Josef Mahlmeister wurde am 8. April 1910 in Bamberg als Sohn des Bahnhofwirtes Wilhelm Mahlmeister aus Kulmbach geboren. Er besuchte in Kulmbach die Volks- und Realschule. Die Reifeprüfung legte er im März 1929 an der Oberrealschule zu Bamberg ab.

Vorklinisch studierte er zunächst 3 Semester in Würzburg, anschließend 2 Semester in Königsberg, wo er am 30. Juli 1931 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Die klinischen Semester verbrachte er in Innsbruck, Graz und Erlangen, wo er am 4. Febr. 1935 die ärztliche Hauptprüfung bestand.

